

Thesis

MUNICH

1964

4

ÜBER DIE o- UND p-HYDROXYLIERUNG
DES ANILIN DURCH LEBERMIKROSOMEN

Sibylle Bauer



Digitized by the Internet Archive
in 2026

AUS DEM PHARMAKOLOGISCHEN INSTITUT DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Professor Dr. M. Kiese

ÜBER DIE o- UND p-HYDROXYLIERUNG
DES ANILIN DURCH LEBERMİKROSOMEN

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin

verfaßt und

einer Hohen Medizinischen Fakultät

der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Sibylle Bauer

aus Seefeld/Obb.

München 1964

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Professor Dr. M. KIESE
Dekan:	Professor Dr. R. BACHMANN

Tag der mündlichen Prüfung: 3. III. 1964

Von den Produkten der biologischen Umsetzung des Anilins wurde p-Aminophenol zuerst entdeckt. SCHMIEDEBERG fand es 1878 im Harn von Hunden, die Anilin erhalten hatten. Zehn Jahre später fanden JAFFE und HILBERT p-Aminophenol auch im Harn von Kaninchen nach Verabreichung von Acetanilid. Beim Hund fanden sie neben p-Aminophenol auch Benzoxazon. Sie vermuteten, daß es bei der Aufarbeitung des Harns aus Harnstoff und o-Aminophenol entstanden war. Damit war der erste Hinweis auf die o-Hydroxylierung bei der biologischen Umsetzung des Acetanilids gegeben.

Die Isolierung von o-Aminophenol aus dem Harn gelang SMITH und WILLIAMS 1949. Sie fanden im Harn von Kaninchen, denen Anilin verabreicht worden war, nach milder Hydrolyse überwiegend p-Aminophenol und zu einem geringen Anteil o-Aminophenol neben anderen Metaboliten des Anilins. PARKE verabreichte verschiedenen Tierarten C_{14} -markiertes Anilin und untersuchte den Harn mit der Isotopenverdünnungsmethode. O- und p-Aminophenol waren benzoiliert oder in einigen Experimenten acetyliert worden. Nach Auskristallisation dieser Aminophenolverbindungen wurde ihre spezifische Radioaktivität gemessen. Das Verhältnis von p-Aminophenol zu o-Aminophenol variierte mit den Tierarten von 15 (Gerbil) bis 0,4 (Katze). PARKE gibt für das Kaninchen 6, für den Hund 0,5 an. Ebenfalls mit der Isotopenverdünnungsmethode untersuchte PIOTROWSKI den Harn von Kaninchen, denen er C_{14} -markiertes Anilin intravenös gegeben hatte. Er drückt die Konzentration der Reaktionsprodukte in Prozenten der verabreichten Anilindosis aus und fand 81,1 % p- und 6,7 % o-Aminophenol. Diese Zahlen ergeben ein Verhältnis von 12,1. COOPER, AXELROD und BRODIE untersuchten erstmals die Umsetzung des Anilins in vitro. Sie inkubierten Schnitte und Homogenate von Kaninchenlebern mit Anilin und fanden p-Aminophenol. Das Hydroxylierungssystem wurde von MITOMA, POSNER, REITZ und UDENFRIEND 1956 beschrieben. Es ist in dem mitochondrien- und zellkernfreien Anteil von Leberhomogenaten enthalten und braucht für seine Wirksamkeit TPNH und Sauerstoff.

BOOTH und BOYLAND entdeckten die Bildung von o-Aminophenol aus Anilin durch Lebermikrosomen von Ratten. POSNER, MITOMA und UDENFRIEND fanden, daß auch Lebermikrosomen von Katzen und Hunden o-Aminophenol aus Anilin bilden. In beiden Untersuchungen wurde das o-Aminophenol papierchromatographisch nachgewiesen. Das Mengenverhältnis des p- zum o-Isomeren wurde aus der Größe und Intensität der Flecke geschätzt. Es war beim Kaninchen groß, bei der Katze 1. Für den Hund fehlt eine Angabe.

SMITH hatte die verschiedenen Mengenverhältnisse der beiden Isomere im Harn verschiedener Tierarten mit der verschiedenen Fähigkeit zur Acetylierung des Anilins zu erklären versucht. Der Substituent am Stickstoff sollte die Hydroxylierung in o-Stellung sterisch hindern und ausschließlich in p-Stellung lenken. Demgegenüber wiesen PARKE und WILLIAMS 1956 auf die Möglichkeit hin, daß

es zwei verschiedene, für die Hydroxylierung in o- und p-Stellung spezifische Fermente gäbe, die bei verschiedenen Tierarten in unterschiedlichem Verhältnis vorhanden sind.

Nachdem KAMPPFMEYER und KIESE (1964) durch Anwendung verschiedener Substanzen, welche die Aktivität von Mikrosomen-Enzymen beeinflussen, die Existenz besonderer Enzyme für die N-Hydroxylierung von Anilin und N-Alkylanilinen sowie für die p-Hydroxylierung von Anilin nachgewiesen haben, prüften wir, ob sich auch die o- und p-Hydroxylierung des Anilin in Lebermikrosomen verschieden beeinflussen ließ.

METHODEN

Mikrosomen von Kaninchenlebern wurden nach der bei KAMPPFMEYER und KIESE beschriebenen Methode hergestellt.

Die Ansätze enthielten außer dem Mikrosomenpräparat und dem Anilin folgende Substanzen: Magnesiumchlorid 6 mM, Nikotinsäureamid 12 mM, Glucose-6-phosphat als Natriumsalz 5 mM, NADP (TPN) 0,24 mM und Glucose-6-phosphatdehydrogenase (Zwischenferment) 20 000 BÜCHER-Einheiten je Liter (KAMPPFMEYER und KIESE 1963). Die Konzentration der Mikrosomen entsprach der im Homogenat, war also ein Drittel der Konzentration im Organ. Mit 0,1 M Phosphatlösung pH 7,4 wurden die Ansätze zur gewünschten Menge aufgefüllt.

Die Ansätze wurden im Wasserbad bei 37° C langsam geschüttelt. Vor Zugabe von Anilin-hydrochlorid, 10 mM, wurden Proben zur Bestimmung der Leerwerte entnommen. Das Substrat war in der einem Zehntel des Ansatzvolumens entsprechenden Menge Wasser gelöst.

40 Min. nach Zugabe des Substrats wurden die Reaktionen im Eisbad zum Stillstand gebracht. Dann wurden sofort Proben zur Bestimmung von p-Aminophenol (1 ml) und von o-Aminophenol (5 ml) entnommen.

Zur Bestimmung von p-Aminophenol wurde die von BRODIE und AXELROD beschriebene Methode mit den von KAMPPFMEYER und KIESE (1963) angegebenen Flüssigkeitsmengen angewandt. Da o-Aminophenol bei Anwesenheit anderer Amine nicht durch eine einfache Reaktion bestimmt werden kann, wurde es isoliert und dann bestimmt. Um Verluste des empfindlichen o-Aminophenols bei der Isolierung zu vermeiden, wurde es gleich nach Beendigung des Versuchs in der Mikrosomen-suspension acetyliert. Das Acetaminophenol wurde in Äther extrahiert, durch Dünnschichtchromatographie von anderen Aminen getrennt, mit Lauge herausgelöst und nach Umsetzung mit GIBBS' Reagens photometriert. Von o-Aminophenol, das Suspensionen von Mikrosomen zugesetzt und sofort acetyliert worden war, wurden mit diesem Verfahren etwa 60 % wiedergefunden. In den Analysen sind die Konzentrationen auf 100 %ige Ausbeute umgerechnet angegeben.

Für die o-Aminophenol-Bestimmung wurden die entnommenen 5 ml Mikrosomensuspension sofort mit 0,2 ml Essigsäureanhydrid versetzt. Das o-Acetylaminophenol wurde mit 10 ml gewaschenem Äther (ohne Zusatz von Isoamylalkohol) durch Schütteln extrahiert. Nach Zentrifugieren wurde die Ätherphase mit wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet, und ein möglichst großer Teil im Wasserbad von 38° C eingedampft. Die Eindampfung des ebenfalls in den Äther extrahierten Essigsäureanhydrids geschah im Vakuum mit Hilfe der Wasserstrahlpumpe unter Erwärmen mit der Hand.

Der Rückstand wurde bei 2° C in 50 µl Methanol aufgenommen. 30 µl der methanolischen Lösung wurden zur Dünnschichtchromatographie mit Blutzuckerpipetten an den Startpunkten auf die Schicht aufgetragen, mit warmer Luft das Lösungsmittel verdampft, und die Platte zur aufsteigenden Chromatographie senkrecht in einen Glastrog gestellt. Als Sorptionsmittel wurde Kieselgel G nach STAHL verwendet (STAHL). Als Fließmittel wurde die Oberphase eines Gemisches aus Benzol, Eisessig und Wasser (2 + 2 + 1 Volumenteile) verwendet (BRAY, CLOWES und THORPE; MITOMA et al.). Die Chromatographie wurde bei 2° C durchgeführt. Die Laufzeit betrug ungefähr 50 Min., die Laufstrecke der Front etwa 12 cm. Der R_f-Wert wurde jedesmal bestimmt durch Besprühen von mitgelauenen Kontrollen von o-Acetaminophenol (unter Abdecken der Analysen) mit 10 %iger Natriumcarbonatlösung und anschließend FOLIN'schem Reagens (1 + 4 mit Wasser verdünnt) (STAHL).

Nach Trocknen mit warmer Luft wurden blaue Flecke mit einem R_f-Wert von 0,125, o-Acetaminophenol entsprechend, sichtbar. Das o-Acetaminophenol trennte sich gut vom p-Acetaminophenol, das unter den gleichen Bedingungen nur einen R_f-Wert von etwa 0,02 hatte. Aus der Steighöhe konnte die Lage des o-Acetaminophenol in den Chromatogrammen der Analysen erschlossen werden. An den vermuteten Orten des o-Acetaminophenols wurde die Schicht in einer Fläche von 20 x 14 mm abgekratzt, in 1,7 ml 0,1 N Natronlauge aufgeschwemmt, und das o-Acetaminophenol in 1/2 bis 1 Std. unter wiederholtem Aufwirbeln herausgelöst. Nach Zentrifugieren wurden 1,5 ml der alkalischen Lösung mit 0,2 ml 0,5 N Salzsäure versetzt, 1 ml 0,2 M Boratpuffer pH 9,25 und GIBBS' Reagens (0,2 ml 2,6 Dichlorchinonchlorimid, 0,01 %ig in Äthanol gelöst) zugegeben. Nach etwa 1 Std. wurde zentrifugiert, und der blaue Farbstoff bei 607 mµ gemessen (FEARON).

ERGEBNISSE

1. DER EINFLUSS DES ALTERS VON MIKROSOMENPRÄPARATEN AUF DIE o- UND p-HYDROXYLIERUNG VON ANILIN.

Schon in den ersten Versuchen mit der Anilinkonzentration 1 mM wurde beobachtet, daß in den Mikrosomensuspensionen nach der Inkubation viel weniger o-Aminophenol als p-Aminophenol vorhanden war. Da die Geschwindigkeit der o-Hydroxylierung des Anilins durch Erhöhung der Substratkonzentration auf 10 mM erhöht wurde, ähnlich der Geschwindigkeit der anderen Anilinhydroxylierungen (KAMPFFMEYER und KIESE, 1964), wurde in allen hier angeführten Versuchen Anilin in der Konzentration 10 mM angewandt.

Auch bei Anwendung der erhöhten Substratkonzentration wurde zunächst eine starke Streuung der Geschwindigkeit der o-Aminophenolbildung beobachtet. Die Ordnung der Ergebnisse nach dem Alter der Mikrosomenpräparate ergab, daß die o-Hydroxylierung des Anilins mit dem Alter der Mikrosomenpräparate schnell abnahm, in 10 - 19 Tagen um 70 % (Tab. 1). In der gleichen Zeit nahm die Fähigkeit der Mikrosomenpräparate zur p-Hydroxylierung - wenn überhaupt - nur sehr wenig ab. In Tabelle 1 sind die beobachteten Aminophenol-Konzentrationen, geordnet nach dem Alter der Mikrosomenpräparate, wiedergegeben. Die o-Aminophenol-Bildung nahm bei einem Alter von 4 - 9 Tagen um 55 %, bei einem Alter von 10 - 19 Tagen um 70 % ab. Die p-Aminophenol-Konzentrationen nahmen im Mittel nur um 18 % bzw. 10 % ab.

Die meisten Ergebnisse wurden mit Mikrosomenpräparaten erhalten, die nur einmal untersucht wurden. Nur wenige Mikrosomenpräparate wurden mehrmals an verschiedenen Tagen zu den Versuchen verwendet. Diese sind in der Tabelle bezeichnet, und bei diesen ist die Abnahme der Aktivität am gleichen Präparat gut erkennbar.

Wenn die Mikrosomenpräparate am Tag nach ihrer Herstellung verwendet wurden, betrug nach der Inkubation das Verhältnis der Konzentration des p-Aminophenol zu der des o-Aminophenol 4,6. Wegen der Empfindlichkeit des o-Hydroxylierungsferments ist anzunehmen, daß durch die Herstellung der Mikrosomenpräparate und die Aufbewahrung bis zur Verwendung am nächsten Tag, ein Teil der Aktivität der o-Aminophenol-Bildung verloren geht. Das Verhältnis von p-Aminophenol zu o-Aminophenol dürfte deshalb in vivo noch kleiner als 4,6 sein.

2. EINFLUSS EINIGER SUBSTANZEN AUF DIE o- UND p-HYDROXYLIERUNG VON ANILIN DURCH MIKROSOMEN AUS KANINCHENLEBERN.

Von den Substanzen, deren Wirkung auf die N- und p-Hydroxylierung des Anilin von KAMPFFMEYER und KIESE (1964) geprüft war, wurden Kupferchlorid 10^{-3} M, N-Äthylmaleinimid 5×10^{-3} M, Iproniazid 10^{-3} M und Semicarbazid 10^{-2} M genau-

er untersucht. Triparanol und SKF 525 A (Diphenylpropylessigsäure-diäthylamino-äthanol-ester) konnten nicht geprüft werden, weil sie durch die Chromatographie nicht vom o-Acetaminophenol getrennt wurden und die Reaktion mit dem GIBBS' Reagens störten.

Für diese Versuche wurden die Mikrosomenpräparate am Tage nach ihrer Herstellung benützt. Wenn die o-Hydroxylierung infolge Lagerung der Präparate gering geworden war, ließen sich Einflüsse auf die Aktivität nur ungenau messen.

Wegen der großen Streuung der o-Aminophenol-Konzentrationen wurden nicht deren Mittel, sondern die mittlere Hemmung der p- und o-Hydroxylierung verglichen. Die Hemmung ist als Abnahme der Enzymaktivität in Prozenten der unbeeinflussten Reaktion ausgedrückt. Die Ergebnisse sind in Tab. 2 wiedergegeben.

N-Äthylmaleinimid und Iproniazid hemmten die Bildung von p-Aminophenol und o-Aminophenol in nahezu gleichem Maße. Es wurde unter dem Einfluß der Substanzen etwa halb so viel Aminophenol wie bei der unbeeinflussten Reaktion gebildet. Kupferchlorid hemmte die o-Hydroxylierung etwa doppelt so stark wie die p-Hydroxylierung. Durch Semicarbazid wurde die Bildung von o-Aminophenol mehr als vier mal so stark gehemmt wie die Bildung des p-Isomers. In Tab. 3 sind die Mittel der Hemmwirkung und ihre Streuung und die Streuung der Werte aus den einzelnen Versuchen zusammengestellt.

Die Unterschiede in der Hemmung der Hydroxylierung von Anilin in o- und p-Stellung sind nach dem t - Test für Kupferchlorid und Semicarbazid echt. Die Differenzen der mittleren Hemmung waren in beiden Fällen größer als der dreifache Wert ihrer Streuung. Die Wahrscheinlichkeit für die Zufälligkeit dieser Befunde betrug 0,006 bzw. weniger als 0,001.

BESPRECHUNG

Das Verhältnis, in dem p-Aminophenol und o-Aminophenol durch Mikrosomuspensionen von Kaninchenlebern gebildet wurden, stimmt mit dem Verhältnis, das PARKE im Urin derselben Tierart nach oraler Verabreichung von Anilin festgestellt hatte, recht gut überein. Der Wert weicht aber von PIOTROWSKIs Angaben ab. Auch für die Umsetzung anderer aromatischer Verbindungen wurden Unterschiede im Verhältnis der isomeren Hydroxylierungsprodukte zwischen in vivo und in vitro durchgeführten Versuchen gefunden (MITOMA et al.).

Die Autoren führen zwei mögliche Ursachen der Diskrepanz an: 1. verschiedene Beständigkeit der Reaktionsprodukte im Organismus und in den Mikrosomenpräparaten; 2. das Vorhandensein von anderen Hydroxylierungssystemen neben dem der Lebermikrosomen.

Da die Fähigkeit zur o-Aminophenol-Bildung mit steigendem Alter der Mikrosomenpräparate abnimmt, die Bildung des p-Isomers aber nahezu unverändert

bleibt, muß man schließen, daß es eine o-Hydroxylase gibt, die weniger beständig ist als die p-Hydroxylase.

Es ergeben sich außerdem Unterschiede in der Beeinflußbarkeit der o- und p-Aminophenol-Bildung durch Kupferchlorid und Semicarbazid. Die Tatsache, daß die hydroxylierten Produkte nicht in dem gleichen Maße vermindert auftreten, zwingt zu der Annahme zweier verschieden empfindlicher Fermente. Die Hemmwirkung von N-Äthylmaleinimid und Iproniacid auf das Entstehen der beiden Isomere war nahezu gleich stark und läßt keinen Schluß auf zwei verschiedene Enzyme zu.

Die Versuchsergebnisse machen das Vorhandensein von zwei verschiedenen Hydroxylasen für Anilin in Kaninchenlebermikrosomen wahrscheinlich.

ZUSAMMENFASSUNG

In Versuchen mit Mikrosomen aus Kaninchenlebern wurde beobachtet, daß die enzymische o-Hydroxylierung und die p-Hydroxylierung von Anilin durch Lagerung der Mikrosomenpräparate und durch Einfluß von Kupferchlorid und Semicarbazid ungleich beeinflußt wurden. Aus diesen Ergebnissen wurde auf die Existenz verschiedener Enzyme für die beiden Reaktionen geschlossen.

TABELLE 1, Legende

Einfluß des Alters von Mikrosomenpräparaten auf die o- und p-Hydroxylierung von Anilin.

Die Mikrosomenkonzentration in den Ansätzen entsprach der des Homogenats. Die Konzentration des Anilins betrug 10 mM, die Versuchsdauer 40 Min. Die Konzentrationen der Reaktionsprodukte sind in $\mu\text{g/ml}$ Ansatz angegeben. Zu den Einzelwerten und zu den Mitteln wurden die Streuungen Δ und $\sigma\Delta$ errechnet.

Zur Feststellung signifikanter Unterschiede zwischen der Wirkung von Mikrosomenpräparaten verschiedenen Alters wurden die Unterschiede der mittleren o-Aminophenol-Konzentrationen im t - Test geprüft.

Die mit o und + bezeichneten Daten stammen aus Versuchen, die mit jeweils den gleichen Mikrosomenpräparaten ausgeführt worden waren.

TABELLE 1

o-Aminophenol

Alter d. Mi- kroso- men in Tagen	Zahl der Ver- suche	Aminophenol /ml Ansatz	Aminophe- noImittel- werte	Streu- ung d. Einzel- werte	Differenz d. Mittel	$\frac{\Delta}{\sigma\Delta}$	Wahrschein- lichkeit d. Zufällig- keit P
I	1	8	5,99	3,07 <u>±</u> 0,7	1,97	$M_I - M_{II}$ 1,69 <u>±</u> 0,95	1,77 0,105
			0,8				
			2,38				
			2,4				
			5,1				
			1,69				
			o 4,89				
+ 1,27							
II	4-9	4	o 3,11	1,38 <u>±</u> 0,64	1,28	$M_I - M_{III}$ 2,11 <u>±</u> 0,87	2,42 0,035
			0,35				
			1,57				
			0,49				
			+ 0,28				
III	10-19	4	0,35	0,96 <u>±</u> 0,56	1,05		
			2,52				
			0,67				
p-Aminophenol							
I	1	12	12,9	14,74 <u>±</u> 1,75	6,07	$M_I - M_{II}$ 3,2 <u>±</u> 2,02	1,58 0,14
			10,2				
			7,4				
			7,8				
			24,0				
			25,2				
			13,6				
			12,9				
			12,0				
			11,1				
II	4-9	4	18,2	11,5 <u>±</u> 1,01	2,01	$M_I - M_{III}$ 2,1 <u>±</u> 1,89	1,11 0,29
			21,6				
			12,8				
			11,7				
			8,5				
			12,9				
III	10-19	4	12,7	12,6 <u>±</u> 0,36	0,73		
			11,4				
			12,9				
			13,4				

TABELLE 2

Einfluß von Kupferchlorid 10^{-3} M, N-Äthylmaleinimid 5×10^{-3} M, Iproniazid 10^{-3} M und Semicarbazid 10^{-2} M auf die o- und p-Hydroxylierung des Anilin durch Mikrosomen aus Kaninchenlebern.

Die Versuchsdauer betrug 40 Min. . Die Konzentration der Mikrosomen in den Ansätzen entsprach der des Homogenats, die des Substrats betrug 10 mM. Nur Versuche mit Mikrosomenpräparaten, die am Tage zuvor hergestellt waren, wurden ausgewertet. Die Daten der Hemmwirkung geben die Unterschiede der Konzentrationen der Reaktionsprodukte aus Ansätzen mit und ohne Zusatz der Substanzen an. Die Unterschiede und ihre Mittel sind in Prozenten der Aminophenol-Konzentrationen der unbeeinflussten Reaktion ausgedrückt.

	Aminophenol γ /ml Ansatz	% Hemmung durch			
		CuCl_2	N-Äthylmaleinimid	Iproniazid	Semicarbazid
o-Amino-phenol	5,99	49	62	9	46
	0,8		62	31	76
	2,38	32	67	23	56
	2,4	59	73	40	47
	5,1		39	48	52
	1,69	61	47	80	80
	4,89	37	39		
	<u>1,27</u>		<u>57</u>		
	3,07	47,6	55,8	38,5	59,5
p-Amino-phenol	18,2	34	52	53	23
	21,6	37	62	59	32
	12,0	8	10	38	8
	11,1	18	17	50	8
	25,2	44	56	39	15
	24,0	24	55	37	5
	13,6	41	65	63	18
	12,9	29	55	60	8
	7,4	10	30	57	
	12,9	20	43		
	10,2	21	45		
	<u>7,8</u>	<u>28</u>	<u>27</u>	<u>62</u>	
	14,7	26,2	43	51,8	14,6

TABELLE 3

Die Daten geben Mittelwerte der Hemmung (siehe Tab. 2) von Kupferchlorid, N-Äthylmaleinimid, Iproniazid und Semicarbazid auf die o- und p-Hydroxylierung von Anilin und ihre Streuung sowie die Streuung der einzelnen Versuchsergebnisse an. Die Hemmung ist als Abnahme der Aminophenol-Bildung in Prozenten der unbeeinflussten Reaktion ausgedrückt. Die Differenz zwischen den Mitteln der Hemmwirkung auf die o- und p-Hydroxylierung ist als Δ , ihre Streuung als $\sigma\Delta$ angegeben. Sie wurden im t - Test auf ihre Signifikanz geprüft.

zuge- setzte Subst.	Werte aus Be- stim- mun- gen von	Zahl der Ver- suche	Mittel d. Hemmung	Streuung d. Einzel- werte	Differenz der Mittel	$\frac{\Delta}{\sigma\Delta}$	Wahrschein- lichkeit d. Zufällig- keit P
Kupfer- chlorid	o-	5	47,6 $\pm$ 5,8	12,9			
	p-	12	26,2 $\pm$ 3,3	11,5	21,4 $\pm$ 6,7	3,19	0,006
N-Äthyl- malein- imid	o-	8	55,8 $\pm$ 4,5	12,8			
	p-	12	43,0 $\pm$ 5,2	18,0	12,8 $\pm$ 6,9	1,86	0,06
Ipro- niazid	o-	6	38,5 $\pm$ 6,9	16,9			
	p-	10	51,8 $\pm$ 3,3	10,3	13,3 $\pm$ 7,6	1,75	0,1
Semi- carba- zid	o-	6	59,5 $\pm$ 6,1	14,8			
	p-	8	14,6 $\pm$ 3,3	9,3	44,9 $\pm$ 6,9	6,5	0,001
Aminophenol							

Herrn Professor Dr. KIESE danke ich herzlich dafür, daß er mir das Thema überließ, mir die Arbeit an seinem Institut ermöglichte und das dazu Notwendige zur Verfügung stellte. Besonders dankbar bin ich Herrn Professor Dr. KIESE für sein Interesse und die ständige persönliche Hilfe bei meiner Arbeit.

LITERATUR

- BOOTH, J., and BOYLAND, E.: The biochemistry of aromatic amines.
3. Enzymic hydroxylation by rat liver microsomes.
Biochem. J. 66, 73 (1957)
- BRAY, H. G., CLOWES, R. C., and THORPE, W. V.: The metabolism of
aminophenols, o-formamidophenol, benzoxazole,
2-methyl- and 2-phenylbenzoxazoles and benzoxazolone
in the rabbit. Biochem. J. 51, 70 (1952)
- BRODIE, B. B., and AXELROD, J.: The estimation of acetanilide and its
metabolic products, aniline, N-acetyl-p-aminophenol and
p-aminophenol (free and total conjugated) in biological
fluids and tissues.
J. Pharmacol. exp. Ther. 94, 22 (1948)
- COOPER, J. R., AXELROD, J., and BRODIE, B. B.: Inhibitory effects of SKF
525 A on a variety of drug metabolic pathways in vitro.
J. Pharmacol. exp. Ther. 112, 55 (1954)
- FEARON, W. R.: The detection and estimation of uric acid by 2,6-dichloroquinone-
chloroimide. Biochem. J. 38, 399 (1944)
- JAFFE, M. and HILBERT, P.: Über Acetanilid und Acetoluid und ihr Verhalten
im tierischen Stoffwechsel. Z. f. physiol. Chem.,
Hoppe Seyler 12, 295 (1888)
- KAMPFFMEYER, H. und KIESE, M.: Einige Eigenschaften der Anilin-hydroxy-
lierenden Enzyme in Mikrosomen. Naunyn-Schmiedeberg's,
Arch. exp. Path. Pharmac. 244, 375 (1963)
- KAMPFFMEYER, H. und KIESE, M.: Further Factors Affecting the Hydroxy-
lation of Aniline and Some of its Derivatives by Liver
Microsomes, Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path.
Pharmk. (im Druck)
- MITOMA, Ch., POSNER, H. S., REITZ, H. C., and UDENFRIEND, S.:
Enzymatic hydroxylation of aromatic compounds.
Arch. Biochem. Biophys. 61, 431 (1956)
- PARKE, D. V.: Studies in detoxication. 84. The metabolism of C₁₄ aniline
in the rabbit and other animals. Biochem. J. 77, 493 (1960)
- PARKE, D. V. and WILLIAMS, R. T.: Species differences in the o- and p-hy-
droxylation of aniline. Biochem. J. 63, 12 P (1956)

- PIOTROWSKI, J. : The metabolism of aniline (low dosage) in rabbits. Med. Pracy 12, 309 (1961); abstract: Chem. Abstr. 57, 2732 (1961)
- POSNER, H. S. , MITOMA, Ch. , and UDENFRIEND, S. : Enzymatic hydroxylation of aromatic compounds, II. Further studies of the properties of the microsomal hydroxylating system. Arch. Biochem. Biophys. 94, 269 (1961)
- SCHMIEDEBERG, O. : Über das Verhältnis des Ammoniaks und der primären Monaminbasen zur Harnstoffbildung im Tierkörper. Arch. exp. Path. Pharmak. 8, 1 (1878)
- SMITH, H. N. : The orientation of biochemically introduced hydroxyl groups in benzene derivatives in the animal body. Biochem. Soc. Sympos. Nr. 5, 15 (1950)
- SMITH, J. N. and WILLIAMS, R. T. : Studies in detoxication. The fate of aniline in the rabbit. Biochem. J. 44, 242 (1949)
- STAHL, E. : Dünnschichtchromatographie. Ein Laboratoriumshandbuch. (1962)

LEBENS LAUF

Am 3. I. 1938 wurde ich in Berlin als erstes Kind des Volkswirts Prof. Dr. Wilhelm Bauer geboren. Als wir aus Berlin nach Seefeld/Obb. evakuiert wurden, war ich 5 Jahre alt. In Oberalting besuchte ich von 1944 - 1947 die Volksschule und kam dann in eine private Oberschule in Herrsching. Von 1948 an besuchte ich das Städt. Mädchen-Realgymnasium in München-Pasing, wo ich im Juli 1956 die Reifeprüfung ablegte. Anschließend war ich 3 Monate lang Haus-tochter bei einer Familie in Südengland. Im Winter 1956/57 begann ich in München das Medizinstudium und machte hier im April 1959 die ärztliche Vorprüfung. Mit Ausnahme von zwei Sommersemestern 1959 und 1960, die ich in Hamburg bzw. Freiburg/Brsg. studierte, war ich auch während der klinischen Ausbildung in München, wo ich im Frühjahr 1962 das medizinische Staatsexamen ablegte. 1959 wurde ich in die Studienstiftung des Deutschen Volkes aufgenommen. Nach dem Staatsexamen machte ich als Medizinalassistentin am Pharmakologischen Institut der Universität München eine experimentelle Doktorarbeit in biochemischer Pharmakologie.

